

三维荧光光谱技术结合 PLSR 在鸭肉中西维因残留检测的应用

肖海斌 赵进辉 刘木华 袁海超

江西农业大学工学院 生物光电及应用重点实验室, 江西 南昌 330045

摘要 根据西维因水解物具有强荧光的特性,提出了利用三维荧光光谱技术结合偏最小二乘回归(PLSR)法测定鸭肉中西维因的残留含量。通过对样品的二维等高线光谱图分析,发现鸭肉和西维因的特征峰能明显区分开,在西维因-鸭肉体系中两者波峰分别位于300/365 nm和320/460 nm,再利用PLSR法建立鸭肉中西维因残留含量预测模型,其预测集中真实值与预测值的决定系数 R^2 和均方根预测误差值 P_{rms} 分别达到0.9883和3.103。结果表明三维荧光光谱技术结合PLSR法可用于鸭肉中西维因残留的测定,具有快速检测和预测精度高优点,为鸭肉中农药残留检测提供了一种有效的手段。

关键词 光谱学;三维荧光光谱技术;偏最小二乘回归法;西维因

中图分类号 O657.3 文献标识码 A doi: 10.3788/LOP51.043001

Application Study of Three-dimensional Fluorescence Spectroscopy Combined with PLSR for Carbaryl Residues in Duck Meat

Xiao Haibin Zhao Jinhui Liu Muhua Yuan Haichao

Optics-Electrics Application of Biomaterials Laboratory, College of Engineering, Jiangxi Agricultural University, Nanchang, Jiangxi 330045, China

Abstract A new method for detecting carbaryl residues in duck meat is proposed using three-dimensional fluorescence spectroscopy and partialleastsquares regression (PLSR), according to the carbaryl derivatives with strong fluorescent properties. The two-dimensional contour spectrograms of samples are analyzed, the results indicate that the characteristic peaks of carbaryl and duck meat are separated obviously, which located at 300/365 nm and 320/460 nm in carbaryl-duck system respectively. Prediction model of carbaryl contents in the duck meat is established using PLSR, the coefficient of determination (R^2) and the root mean squared prediction error (P_{rms}) are 0.9883 and 3.103, respectively. The results show that the method which combining three-dimensional fluorescence spectroscopy with PLSR could be used to measure the carbaryl residue in duck meat, it has the advantages of rapid and accuracy determination, and an effective means is provided for detection of pesticide residue in duck meat.

Key words spectroscopy; three-dimensional fluorescence spectroscopy; PLSR; carbaryl

OCIS codes 300.2140; 300.6280; 300.6390

1 引言

西维因学名甲氨基甲酸-1-萘酯,是一种具有高效、触杀和胃毒作用的氨基甲酸酯类杀虫剂,广泛应用于农业及其他领域^[1-3]。随着这类农药大量、持续的使用,在蔬菜、水稻等农作物中不断积累,甚至已经渗透到环境水中。鸭肉的营养价值很高,其性平和但不热,脂肪高但不腻,富含铁、钾、糖、蛋白质和脂肪等多种营养物质,具有祛病健身的功效。但是在当前的养殖中,常喂养含有农药的饲料,有时甚至误食喷洒农药的

收稿日期: 2013-10-28; 收到修改稿日期: 2013-12-10; 网络出版日期: 2014-03-28

基金项目: 国家自然科学基金(31101295)、江西省研究生创新专项资金(YC2012-S059)、江西省科技厅对外科技合作计划(20132BDH80005)、江西省科技厅科技支撑项目(2012BBG70058)和江西省教育厅科技计划(GJJ12244)

作者简介: 肖海斌(1988—),男,硕士研究生,主要从事农畜产品无损检测方面的研究。E-mail: hbxbiao168@163.com

导师简介: 刘木华(1969—),男,博士,教授,主要从事农产品光学无损检测方面的研究。E-mail: suikelmh@sohu.com (通信联系人)

农作物或者受污染的水而导致大量农药残留累积在鸭体内,食用这种鸭肉将会威胁人们身体健康,所以必须建立快速残留量的鸭肉中农药检测方法。

禽肉食品中农药残留检测分析传统方法有:高效液相色谱法^[4-6]、气相色谱法^[7-8]和酶联免疫分析法^[9-10]等,由于处理和操作过程非常复杂、费时,且仪器价格比较昂贵,不适合普及应用。三维荧光光谱技术是近年来发展的一种新的光谱分析技术,具有操作简单、成本低和快速无损检测等特点,能够获取待测物的完整荧光特征图,广泛应用到痕量物质的检测,如利用荧光分析法检测抗蚜威、残杀威和抗生素类等物质残留^[11-13]。本研究利用三维荧光光谱技术^[14]结合偏最小二乘回归法(PLSR)^[15-16]对鸭肉中西维因残留进行检测研究,为快速、无损检测鸭肉中西维因等农药残留提供了理论依据。

2 材料与方 法

2.1 仪器设备

Varian公司的Cary Eclipse型三维荧光光谱仪(自制的固体装置);LD-4型电动离心机(转速范围:1000~8000 r/min,上海浦东物理光学仪器厂);FA1004型电子秤(精确度为1 mg,上海上平仪器有限公司)。

2.2 实验材料与试剂

麻鸭,购于江西农业大学附近菜市场,宰杀后再取下胸脯肉低温保存备用,实验时取出,将鸭肉切成长宽约为1.5 cm×1.5 cm,厚为1~2 mm大小作为样品备用。

西维因标准储备液配制:准确称取标准品(CAS号:63-25-2,质量浓度为98.7%,购于中国标准物质网)0.05 g,在100 mL的棕色容量瓶中用甲醇定容,超声溶解,配制成500 mg/L储备液。配制1.5 mol/L NaOH储备液,低温保存备用。其中甲醇为色谱纯,其他试剂均为分析纯。

2.3 实验方法

2.3.1 鸭肉、西维因标准储备液和西维因-鸭肉体系三维荧光光谱扫描

由于西维因在碱性条件下可以产生荧光性很强的物质萘酚,取0.2 mL的西维因标准储备液到10 mL的棕色容量瓶中,再加上一定量的NaOH溶液反应一段时间,用甲醇定容,得到浓度为10 mg/L储备液。取适量的储备液至1 cm×1 cm石英比色皿中,选择激发波长范围为270~350 nm,发射波长范围为280~600 nm,激发、发射狭缝分别为5 nm和2.5 nm,发射滤波片为360~1100 nm,PMT电压选择为600 V,扫描其三维荧光光谱。再将鸭肉和西维因-鸭肉体系样品分别放置到固体装置载物台上扫描三维荧光光谱,发射狭缝改为5 nm,PMT电压改为750 V,其他参数设置不变,分别获得了三种物质的三维荧光光谱图。

2.3.2 样品的三维荧光光谱数据

将鸭肉样品放置到固体装置载物台上,用移液枪取10 μL西维因水解物储备液到鸭肉表面,静置一段时间至干,其有一部分溶液渗透到鸭肉中去,另一部分残留在鸭肉表面,采集三维荧光光谱图,参数设置如上。按照此方法获得了40个含有农药的鸭肉样品,选取30个作为校正集,浓度范围为3.952~158.1 mg/kg。剩下10个作为预测集,浓度范围为11.86~154.1 mg/kg。采集从发射波长280~600 nm范围的荧光数据,以Excel格式的数据导入Unscrambler 9.7软件中进行处理。

3 实验结果分析

3.1 样品的三维荧光光谱图

按照实验方法,利用三维荧光光谱仪采集样品的三维荧光光谱图,运用相关软件分别得到了三种样品的二维等高线光谱图如图1~3所示。从图1和图2可以看出,鸭肉背景在激发/发射波长为300/365 nm处有一个强荧光峰,而浓度为10 mg/L的西维因标准储备液的特征峰位于激发/发射波长330/460 nm处,并且它们两者的特征峰值区间也比较窄,可以得到很好地分离。

如图3所示,其含有浓度为158.1 mg/kg的西维因鸭肉样品的二维等高线光谱图中有两个特征荧光峰,峰位置分别在300/365 nm和320/460 nm处。由于鸭肉背景信号的复杂性影响,发现西维因农药的波峰位置存在少量的偏移,但还是可以很明显的识别出西维因的特征峰。

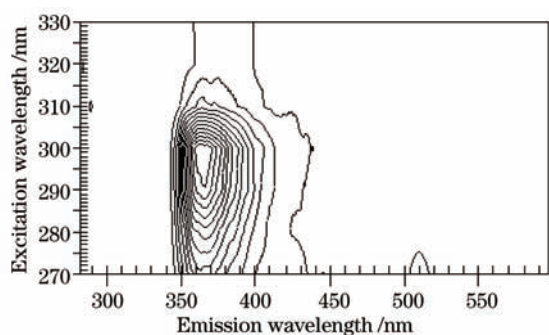


图1 鸭肉背景的二维等高线图

Fig.1 Two-dimensional contour map of duck background

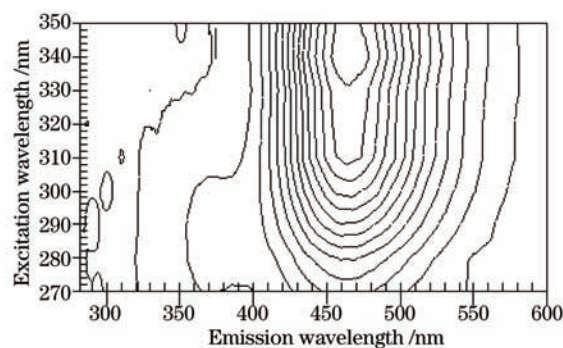


图2 西维因标准储备液的二维等高线图

Fig.2 Two-dimensional contour map of carbaryl standard stock solution

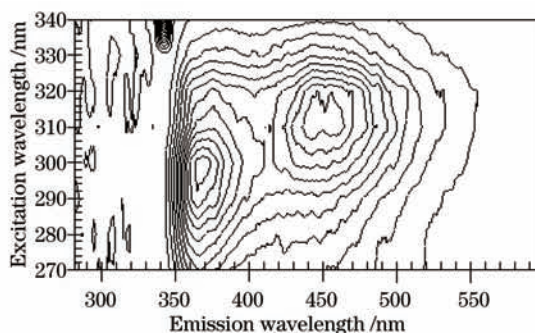


图3 含有西维因的鸭肉的二维等高线图

Fig.3 Two-dimensional contour map of the duck meat containing carbaryl

3.2 最佳发射光谱的选择

最佳发射光谱的选择影响样品的荧光强度以及荧光峰的形状,因此选择合适的激发波长来激发样品,可以得到样品的最佳发射光谱,如图4所示,采集了当西维因的浓度为158.1 mg/kg时含有西维因鸭肉样品的三维荧光光谱图。其中图4(a)描述的在激发波长270~340 nm范围的发射光谱二维平面图,图4(b)是对应的三维立体图,在发射波长460 nm处的荧光强度随着激发波长增加而先增高再降低。从图4可以看出,在激发波长为310 nm时,其发射光谱曲线为最佳,荧光强度最强,因此利用三维荧光光谱技术对鸭肉中西维因残留含量定量分析时,样品的激发波长均选择为310 nm。

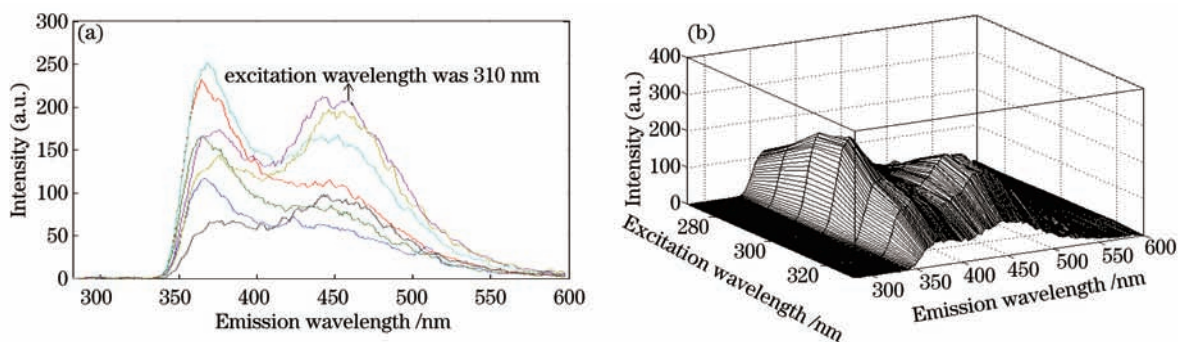


图4 含有西维因的鸭肉的荧光光谱图。(a)二维平面图;(b)三维立体图

Fig.4 Fluorescence spectroscopy of duck meat with carbaryl. (a) Two-dimensional map; (b) three-dimensional map

3.3 数据预处理

为了分析不同光谱预处理方法对模型的影响,采用平滑光谱处理(moving average, median filter)、一阶微分(FD)和标准正交变量变换(SNV)三种方法进行比较。不同预处理方法的PLS模型预测结果如表1所示,通过比较发现,FD和SNV方法预处理后,模型预测结果较差,FD方法是提取相邻光谱点之间的差异来预处理,因此可能会放大噪声,降低信噪比,光谱经SNV处理后,光谱特征峰处的差异被分散到背景差异中,

即在减小实验误差的同时,也增加人为误差。平滑预处理和不做预处理的模型预测结果接近,平滑处理后可能失去了光谱原有的细节信息,使平滑效果不是很好。因此直接采用原始数据进行PLS建模就可以达到最好的预测结果。

表1 不同预处理的PLS模型预测结果比较

Table 1 Results of PLS prediction with different pretreatment methods

Pre-processing methods	R^2	C_{rms}	Rp^2	P_{rms}
None	0.9891	3.00	0.9883	3.10
Median Filter	0.9890	3.03	0.9882	3.10
Moving Average	0.9889	3.04	0.9883	3.10
FD	0.9300	7.62	0.7960	12.9
SNV	0.9986	1.06	0.9637	5.46

3.4 模型预测

采集样品的三维荧光光谱后,以Excel格式将数据导出来,总共得到40个样品数据,从每4个样品中选择一个作为预测集,即30个样品作为校正集,10个样品作为预测集。利用偏最小二乘(PLS)法建立最佳模型时,其选择的主成分数至关重要,直接影响的模型的预测能力,通过试验发现,当主成分数选择为3时,可以得到最佳的定量分析模型。如图5所示为西维因-鸭肉体系的校正模型,其西维因的真实浓度值和预测值的决定系数 R^2 为0.9891,均方根误差 C_{rms} 为3.00。

利用该模型对预测集西维因-鸭肉体系中西维因含量进行定量预测,其西维因的真实浓度值和预测值的对应关系如图6所示。其决定系数 R^2 达到0.9883,均方根预测误差值 P_{rms} 为3.10,说明了该预测模型的精度比较高。

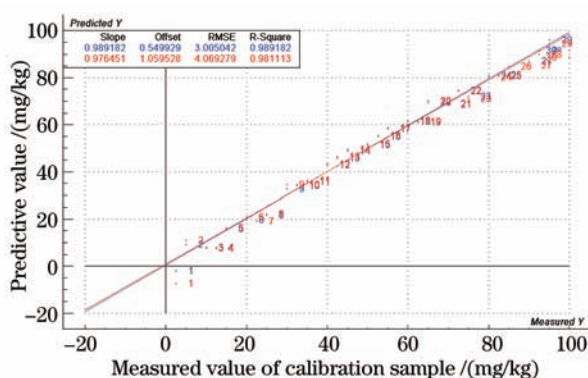


图5 含有西维因鸭肉的校正模型

Fig.5 Calibration model of duck meat with carbaryl

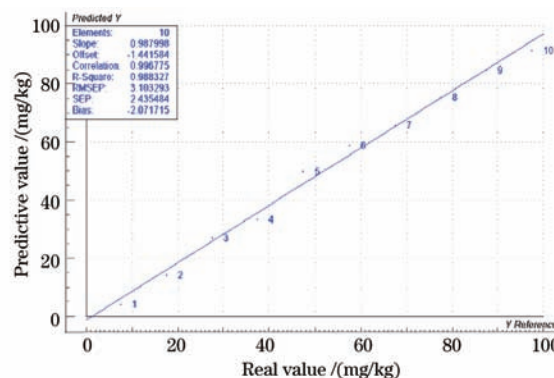


图6 鸭肉中西维因含量的真实值与测定的预测值之间的关系

Fig.6 Correlation between actual value and predictive value of carbaryl contents in duck meat

4 结论

三维荧光光谱技术可以描述混合体系的完整荧光信息,具有信息丰富、分析快速等特点,且利用PLSR法对鸭肉中西维因残留含量进行快速检测分析。本文采用三维荧光光谱仪分别采集鸭肉、西维因储备液和西维因-鸭肉体系的三维荧光光谱图,根据其荧光光谱图得到它们的二维等高线光谱图,可知鸭肉和西维因水解物的特征峰明显区分开来,分别位于300/365 nm和320/460 nm处。利用PLSR法对西维因-鸭肉体系样品进行建模和预测,结果表明其预测集中真实值与预测值的 R^2 和 P_{rms} 分别为0.9883、3.103,说明此方法可以用于快速、准确检测鸭肉中农药残留含量,并且可以应用到其他有害物质的快速检测领域。

参考文献

- 1 Xu Jinkang, Tian Changqing. Study on toxicity of Carbaryl pesticide [J]. Health Research, 1980, (1): 83-88.
- 徐晋康, 田长青. 农药西维因的毒性研究[J]. 卫生研究, 1980, (1): 83-88.
- 2 Zhou Yunzhen, Li Shimin, Deng Xuehong, et al.. Evaluate of Carbaryl pesticide toxicology [J]. Chinese J Food Hygiene,

- 1992, (3): 58.
周韞珍, 李世敏, 邓雪红, 等. 农药西维因的毒理学评价[J]. 中国食品卫生杂志, 1992, (3): 58.
- 3 Qiao Guanghao, Liu Xin. Some progress in research on toxicity and estrogenic activity of carbaryl [J]. Environmental Science & Technology, 2010, 33(2): 99-105.
乔广浩, 刘欣. 杀虫剂西维因毒性及雌激素活性进展研究[J]. 环境科学与技术, 2010, 33(2): 99-105.
- 4 Shalaby A R, SalamaNadia A, Abou-Raya S H, *et al.*. Validation of HPLC method for determination of tetracycline residues in chicken meat and liver [J]. Food Chemistry, 2011, 124(4): 1660-1666.
- 5 Wu Yinliang, Li Cun, Liu Yongjun, *et al.*. Fast determination of sudan dyes in duck meat and egg by high performance liquid chromatography [J]. Chinese J Analytical Chemistry, 2008, 36(6): 843-845.
吴银良, 李存, 刘勇军, 等. 高效液相色谱法快速测定鸭肉和鸭蛋中苏丹红染料[J]. 分析化学, 2008, 36(6): 843-845.
- 6 Evaggelia N, Evaggelopoulou, Victoria F Samanidou. Confirmatory development and validation of HPLC-DAD method for the determination of tetracyclines in gilthead seabream (*Sparus aurata*) muscle tissue [J]. J Separation Science, 2012, 35(10-11): 1372-1378.
- 7 Tian Ying, Ba Yier. Determination of trimethylamine in pork by gas chromatography [J]. Chinese Health Inspection Journal, 2010, 20(1): 22.
田映, 巴依尔. 气相色谱法测定猪肉中的三甲胺[J]. 中国卫生检验杂志, 2010, 20(1): 227.
- 8 Stefanelli, Patrizia, Santilio. Multiresidue analysis of organochlorine and pyrethroid pesticides in ground beef meat by gas chromatography-mass spectrometry [J]. J Environmental Science and Health, 2009, 44(4): 350-356.
- 9 Liu Shuzhao, Feng Dahe, Qian Chuanfan. Studies on enzyme-linked immunoassay assay for the determination of carbaryl [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 1999, 1(1): 62-68.
刘曙照, 冯大和, 钱传范. 甲萘威酶联免疫吸附分析技术研究[J]. 农药学报, 1999, 1(1): 62-68.
- 10 Wu Zhongping, Xu Chunxiang, Gao Wei, *et al.*. Determination of pesticide residue in food by Enzyme-linked immunoassay [J]. Jiangsu Journal of Agricultural Science, 2007, 1: 198-201.
武中平, 徐春祥, 高巍, 等. 酶联免疫分析法及其在食品农药残留检测中的应用[J]. 江苏农业科学, 2007, 1: 198-201.
- 11 Zhang Guowen, Li Weibo, Zhao Nan, *et al.*. Determination of pirimicarb residues by fluorescence spectroscopy [J]. Journal of Nanchang University, 2010, 34(4): 349-352.
张国文, 李蔚博, 赵楠, 等. 荧光光谱法测定杀虫剂抗蚜威的残留量[J]. 南昌大学学报, 2010, 34(4): 348-352.
- 12 Xu Jingou, Wang Zunben. Fluorescence Analysis [M]. Beijing: Science Press, 2007.
许金钩, 王尊本. 荧光分析[M]. 北京: 科学出版社, 2007.
- 13 Tu Yifeng, Liu Lingbao. The determination of ofloxacin by fluorescence spectrophotometry [J]. Spectroscopy and Spectral Analysis, 2000, 20(6): 880-882.
屠一锋, 柳玲宝. 荧光光度法测定抗生素氟沙星[J]. 光谱学与光谱分析, 2000, 20(6): 880-882.
- 14 Lai Bo, Zhou Yuexi, Dou Lianfeng, *et al.*. Variation trend of three-dimensional fluorescence characteristics of aromatic organic pollutants in the ABS wastewater treatment process [J]. Acta Optica Sinica, 2011, 31(1): 11-15.
赖波, 周岳溪, 窦连峰, 等. ABS废水处理过程中芳香类有机污染物三维荧光特性的变化规律[J]. 光学学报, 2011, 31(1): 11-15.
- 15 Qiao Xiaoyan, Wang Yanjing, Li Gang, *et al.*. Prediction of acetamiprid residues by fluorescence spectroscopy based on PLS method [J]. Optics and Precision Engineering, 2010, 18(11): 2369-2374.
乔晓艳, 王艳景, 李刚, 等. 偏最小二乘法荧光光谱预测啉虫脒农药残留[J]. 光学精密工程, 2010, 18(11): 2369-2374.
- 16 Li Xiaoyan, Liu Zhihong, Cai Ruxiu, *et al.*. Simultaneous determination of tyrosine, tryptophan and phenylalanine by spectrofluorimetry using partial least-squares multivariate calibration [J]. J Wuhan Univ (Nat Sci Ed), 2002, 48(4): 423-426.
李晓燕, 刘志洪, 蔡汝秀, 等. 荧光光谱PLS法同时测定氨基酸混合物[J]. 武汉大学学报, 2002, 48(4): 423-426.